



TITLE:

Impact of Sox9 Dosage and Hes1-mediated Notch Signaling in Controlling the Plasticity of Adult Pancreatic Duct Cells in Mice(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Hosokawa, Shinichi

CITATION:

Hosokawa, Shinichi. Impact of Sox9 Dosage and Hes1-mediated Notch Signaling in Controlling the Plasticity of Adult Pancreatic Duct Cells in Mice. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-07-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19224>

RIGHT:

京都大学	博士（医 学）	氏 名	細川 慎一
論文題目	Impact of Sox9 Dosage and Hes1-mediated Notch Signaling in Controlling the Plasticity of Adult Pancreatic Duct Cells in Mice (Sox9 発現量と Hes1 を介した Notch signaling によるマウス成体膵管細胞の可塑性制御)		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>【背景・目的】受精卵がもつ細胞可塑性は、細胞分化が進むにつれて次第に低下してゆく。しかし、皮膚や腸管においては、成体期にも一定の可塑性を保持する臓器特異的幹細胞が存在する事が知られている。「成体膵管構造内に特異的幹細胞が存在するか否か？」は長い論争にあり、Cre/loxP を用いた 2 つの lineage tracing の報告でも相矛盾する結果が示されたことから、今なお結論が出ていない。つまり、BAC Sox9-CreERT2 transgene を用いた lineage tracing 解析からは、Sox9 陽性膵管細胞は成体期には分化能力を喪失するが、Sox9-IRES-CreERT2 ノックインマウスでは成体 Sox9 陽性膵管細胞が可塑性を保持した外分泌幹・前駆細胞として機能し、持続的な腺房細胞供給を行う事が分かっている。本研究では、Sox9-IRES-CreERT2 ノックインマウスをモデルとして使用することで、「成体膵管細胞の可塑性がどのような制御を受けているか？」を解明する事を目的とする。</p> <p>【方法・結果】胎生期膵細胞の可塑性を規定する分子機構として、Sox9 発現量、Notch シグナル等が知られている。成体 Sox9-IRES-CreERT2 ノックインマウスの膵管細胞の可塑性にも、その両者が関与するとの仮説で研究を進めた。実験は①Western Blotting と qPCR を用いた Sox9 発現量解析、②Hes1 免疫染色および qPCR を用いた Notch シグナル強度の評価、③Tamoxifen 誘導性 Hes1 ノックアウトによる loss of function および Notch 細胞内ドメイン(NICD)強制発現による gain of function 実験を、それぞれ Sox9 lineage tracing と組み合わせる事で、Notch シグナル改変により腺房細胞分化がどのような影響を受けるか？の検討（lineage label される腺房細胞の数で評価）、④Hes1 不活化、さらに膵管結紮による膵障害を付加することで、膵管細胞が内分泌細胞へと分化するかどうか？の検討を行った。その結果、①Sox9-IRES-CreERT2 ノックインマウスの Sox9 発現量は、出生直後ではワイルドタイプマウスと同等であったが、成体期（10 週目）においてはワイルドタイプマウスより有意に減少していた。②Hes1 発現パターンおよび発現量は、出生直後でも成体期においてもワイルドタイプマウスと有意な差を認めなかった。③Tamoxifen 誘導性に成体膵管細胞特異的に Hes1 を不活化することで、lineage label される腺房細胞が増加し、NICD 強制発現によって Notch を活性化させると lineage label される腺房細胞が減少した。Notch シグナル改変による Sox9 の発現量の変化を調べたところ、NICD 強制発現では Sox9 の発現量が有意に上昇したが、Hes1 不活化では Sox9 の発現量に変化はなかった。④膵管細胞は、Hes1 不活化と膵管結紮による膵障害をあわせても内分泌細胞への分化は認めなかった。</p> <p>【結果及び考察】胎生期膵形成において Notch シグナルは内分泌・外分泌細胞分化の両方を制御する事、Sox9 発現量は内分泌細胞分化を制御するが外分泌細胞</p>			

<p>分化にはほとんど影響しない事が知られている。今回の研究で、Notch signaling は Hes1 と Sox9 を並列的に制御し、Sox9 と協調的に機能することで成体膵管細胞の腺房細胞への分化を負に制御していることが明らかとなった。また、膵管細胞の特性の維持には、Notch シグナル強度とは独立して Sox9 の発現量が重要な要素であることがわかった。一方、Hes1 を不活化しても、更に膵管結紮による膵障害を加えても、成体膵管細胞からの内分泌細胞分化は認めなかった。</p> <p>成体 Sox9 陽性膵管細胞からの腺房細胞分化が、胎生期と一部共通のシステムで制御されている一方で、内分泌細胞への分化能力を喪失している原因の一つとして、成体膵特有の組織構築を想定する。胎生期の内分泌・外分泌細胞は共に Sox9 陽性膵管構造より発生する。成体期においても膵管構造と連続して存在する外分泌腺房細胞は、胎生期の分化制御機構を温存しつつ Sox9 陽性膵管細胞からの供給を受けるが、生後に膵管構造から遊走して“膵島”として存在する内分泌細胞は、Sox9 陽性膵管構造からの供給を受けないと考えられる。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>成体マウス膵管細胞は、他細胞へと変化しうる能力（可塑性）を持つという仮説がある。本論文の研究者は、成体膵管細胞から持続的な腺房細胞供給を示す Sox9-IRES-CreERT2 ノックインマウスをモデルとして使用し、成体膵管細胞の可塑性制御における Sox9 と Notch シグナルの意義を検討した。まず、このマウスの成体膵 Sox9 発現量はワイルドタイプマウスに比べて有意に低いことが分かった。一方、膵管内 Hes1 陽性細胞数、Hes1 発現量はワイルドタイプマウスと差がないことから、同等の Notch シグナル強度を持つと考えた。lineage tracing により、膵管細胞から腺房細胞への分化は Hes1 不活化で促進され、逆に Notch 細胞内ドメインの強制発現で抑制されることが分かった。Notch 細胞内ドメイン強制発現によって Sox9 発現量が有意に上昇したが、Hes1 不活化は Sox9 発現量に影響しなかった。以上の結果より、Notch は Hes1 と Sox9 を並列的に制御しており、Sox9 と協調的に機能することで成体膵管細胞から腺房細胞への分化を負に制御していると考えられる。一方、このマウスで Hes1 を不活化しても、更に膵管結紮による膵障害を加えても、内分泌細胞分化は認めなかった。</p> <p>以上の研究は胎生期膵細胞分化を制御する Notch シグナルと Sox9 発現量が成体膵管細胞の可塑性制御にも関与するという新たな知見を提供しており、膵発生学並びに生理学に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 7 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。</p>
